

О РОЛИ ОБОРОНИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В УСТОЙЧИВОСТИ К ИНСЕКТИЦИДАМ У ДРОЗОФИЛЫ

Л. С. Бачурихина, Е. М. Лучникова

Изучение устойчивости насекомых к инсектицидам является в настоящее время одной из важных задач сельского хозяйства, медицины и биологии. Однако вопрос относительно механизмов устойчивости насекомых к ядам остается до сих пор недостаточно выясненным и требует разрешения в целях нахождения действенных способов борьбы с вредными насекомыми. Кроме того, процесс возникновения устойчивости насекомых к ядам представляет значительный интерес как пример эволюции, протекающей под влиянием мер борьбы с вредными насекомыми.

Резистентность к инсектицидам может быть обусловлена различными факторами. Различают устойчивость: морфологическую, когда сама морфологическая структура затрудняет проникновение яда в организм, физиологическую, когда с помощью внутренних химических процессов обезвреживается ядовитое вещество (например, ДДТ превращается в нетоксичное ДДЕ), и «кажущуюся» или «поведенческую», когда насекомое противостоит яду, изменяя свое поведение (Jettmar, 1956). Из указанных факторов устойчивости насекомых к инсектицидам наименее исследован очень интересный фактор — «поведенческий».

Согласно утверждениям ряда авторов (King a. Gahan, 1948; Hess, 1952; Metcalf, 1955; Jettmar, 1956; Savel, 1958; Дербенева-Ухова, 1959) резистентные к инсектицидам насекомые могут менять свое поведение. Это проявляется в уходе насекомых от обработанных ядом поверхностей и в меньшей подвижности таких особей. Однако экспериментальных данных в этом направлении не имеется, а все заключения основываются на случайных наблюдениях из практики борьбы с вредными насекомыми.

Поведение насекомых несомненно оказывает влияние на их устойчивость к ядам. Поведение животных организмов, в том числе и насекомых, в онтогенезе является результатом взаимодействия безусловной и условной систем рефлекторной деятельности. Несомненно, что и в филогенезе животных организмов нервной системе принадлежит огромная роль.

Наши наблюдения, начатые в 1958 г., показали, что чувствительные к ДДТ линии *Drosophila melanogaster* реагируют частичным уходом на поверхности, обработанные большими дозами ДДТ. Этот уход представляет собой оборонительный безусловный рефлекс. Выяснение роли оборонительной реакции в устойчивости дрозофилы к ДДТ и было поставлено целью наших исследований.

Работа проводилась под научным руководством профессора М. Е. Лобашева.

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛ

Работа велась на линиях дрозофилы из популяции Полтава, собранной летом 1958 г. под Полтавой. В исследованиях использовались мухи в возрасте 1—2 дней. До опыта мухи сутки выдерживались на свежей питательной среде в целях уменьшения пищевого возбуждения насекомых (рецепт среды: вода 100 см³, агар 2 г, дрожжи 20 г, сахар 6,6 г, манная крупа 6,6 г). Опыты ставились в стеклянных плоскодонных стаканчиках диаметром 2,5 см и высотой 7,5 см. На дно стаканчиков наливалась агар-сахарная среда слоем 4—5 мм (состав среды: вода 100 см³, агар 5,3 г, сахар 8 г).

Из числа мух потомства одной пары особей в два стаканчика отсаживалось по 30 насекомых (15 самок и 15 самцов). В один стаканчик вносилась полоска фильтровальной бумаги (5 × 2 см), обработанная раствором ДДТ в ацетоне из расчета 512 у.я. на 1 см² всей внутренней поверхности стаканчика, в другой — необработанная. Продолжительность испытания составляла 30 мин, в течение которых делалось 10 подсчетов нахождения мух на бумажке в каждом стаканчике, при интервале между подсчетами в 3 мин. Опыты проводились в камере-термостате при температуре 25°.

Нами исследовано 7 чувствительных линий дрозофилы, причем одна из них в трех повторностях. В каждой линии рассмотрено не менее 20 пар стаканчиков. Во всех 9 случаях, кроме одного, одна из трех повторностей линии Полтава 48), посадок мух на обработанную ДДТ поверхность было в среднем за опыт вдвое меньше, чем на необработанную поверхность, в одной же повторности — втрое. Таким образом, большие дозы ДДТ вызывают у дрозофилы оборонительную реакцию. Эта реакция была использована нами для отбора «по поведению».

Отбор проводился в линии Полтава 48), содержащейся после извлечения из природной популяции в течение одного поколения в массовой культуре, а затем размножавшейся при индивидуальной посадке. «Уход» мух с обработанной ДДТ поверхности оценивался по вышеописанной методике. Для дальнейшего размножения оставлялись мухи из стаканчиков, в которых особи показывали наилучший «уход». Строго параллельно с селектируемыми мухами размножались и подвергались действию ДДТ в каждом поколении контрольные мухи, которые происходили из той же линии, что и подопытные, но не подвергались отбору на «уход». В контроль на размножение брались не контактировавшие с ядом мухи из стаканчиков, в которых величина посадок на чистую поверхность была ближайшей к среднему из числа всех просмотренных стаканчиков.

Результаты опытов показали, что уже в четвертом поколении отбора выявились случаи полного отсутствия посадок селектируемых мух на обработанную ДДТ поверхность в течение 30 мин опыта, в десятом же поколении отбора такие случаи составляли 90%. Таким образом, оборонительная реакция дрозофилы на ДДТ в результате селекции оказалась резко усиленной.

Гипотетически можно предположить, что отбор велся не только по безусловной оборонительной реакции дрозофилы на ДДТ, но возможно, что селекция шла и по отбору форм с наиболее чувствительной рецепцией, в силу чего такие особи способны быстро образовывать условный рефлекс.

Возможно, что «уход» чувствительных мух от обработанной ДДТ поверхности, который мы наблюдаем в течение 30 мин опыта, есть не только проявление оборонительного безусловного рефлекса дрозофилы,

а комплексе безусловного рефлекса и условного, который вырабатывается в ходе опыта.

Селектируемые мухи значительно менее подвижны, чем контрольные, и в большинстве случаев скапливаются вверху стаканчика на ватной пробке, которой закрывается стаканчик. Частично они сидят и на стенках стаканчика около пробки. Однако если пробку обработать ДДТ, то мухи резко сокращают на нее посадки, как и на обработанную ядом полоску бумаги. Этот факт говорит о том, что активный уход от ДДТ как защита от вредящего агента преобладает над другой формой защиты насекомого — неподвижностью, торможением двигательной активности организма.

Исследования показали, что селектируемые мухи в ходе отбора сократили количество посадок на чистую, не обработанную ДДТ полоску бумаги. Этот факт говорит о том, что отбор шел не только на активный уход мух от обработанной ДДТ поверхности, но имел место и отбор менее подвижных форм. В качестве примера приведена табл. 1.

Таблица 1

Посадки селектируемых и контрольных мух на чистую и обработанную ДДТ поверхность
(средние данные 10 подсчетов по 10 стаканчикам)

№ стаканчиков	Селектируемые мухи		Контрольные мухи	
	ДДТ	без яда	ДДТ	без яда
1	0	75	37	211
2	0	184	107	227
3	0	94	94	130
4	0	74	103	240
5	0	54	72	270
6	0	91	93	212
7	0	64	79	206
8	0	56	63	120
9	0	126	91	208
10	0	17	118	201
В среднем	—	83	89	202

Посадки селектируемых мух были снижены по сравнению с контролем не только на поверхностях, обработанных ДДТ, но и другими ядами (табл. 2).

Были испытаны хлорорганические яды — ДДТ, ДДД, ГХЦГ, метоксифлор, пертан и фосфорорганические — трифос. Для этого испытания были взяты линии: селектируемые мухи (после 10 поколений отбора «по поведению») линии Полтава 48; контрольные мухи этой же линии, не подвергавшиеся отбору; чувствительная к ДДТ линия Ш16-8 (чувствительный лабораторный стандарт); резистентная к ДДТ линия РШ. Две последние линии получены нами от профессора Ю. М. Оленова. Линия РШ создана путем гибридизации двух резистентных линий Р (Ростовская популяция) и Ш (мухи взяты с завода шампанских вин в Ленинграде), у которых устойчивость вырабатывалась путем отбора форм с лучшей выживаемостью при последовательном повышении доз яда в поколениях отбора (Оленов, 1958).

Как видно из табл. 2, посадки селектируемых мух значительно сни-

жены по сравнению с контролем, а также с другой чувствительной к ДДТ линией Ш16-8 и с резистентной к ДДТ линией РШ, не только на обработанные ДДТ поверхности, но и на поверхности, обработанные другими ядами — хлор- и фосфорорганическими. Этот факт говорит о том, что оборонительная реакция дрозофилы на ДДТ, усиленная селекцией, является неспецифической. Она не связана с одним только ядом ДДТ, а распространяется и на другие инсектициды.

Таблица 2

Посадки мух на поверхности, обработанные различными ядами
(Средние данные 10 подсчетов по 10 стаканчикам в каждом варианте)

Исследуемые линии	Яды и их дозы					
	ДДТ	Без яда	Метоксип-хлор	Пертан	ЦД	Тиюфос
	512 γ см ²		512 γ см ²	512 γ см ²	512 γ см ²	0,08 γ см ²
Опыт	5	93	29	19	0,6	0,1
Контроль	109	205	119	126	131	35
РШ (R)	81	207	141	58	32	21
Ш16-8 (S)	44	133	106	68	65	22

Из табл. 2 видно, что все испытанные яды, в примененных нами дозах, вызывают в той или иной степени у дрозофилы оборонительную реакцию. Однако у мух, подвергавшихся селекции, эта реакция проявляется особенно сильно и притом на все испытанные яды. Мухи резистентной к ДДТ линии РШ по своему поведению отличны от мух, подвергавшихся отбору по оборонительной реакции. РШ показывают большее количество посадок на поверхности, обработанные различными ядами, чем селективируемые мухи, и более подвижны. По своему поведению они стоят ближе к чувствительному стандарту и к контролю нашего отбора.

После 10 поколений отбора «по поведению» селективируемые мухи, когда они показывали резко сниженное количество посадок на обработанные ДДТ поверхности, были проверены на устойчивость к ДДТ. Инсектицид применялся в той же дозе, при которой велась селекция, т. е. 512 γ на 1 см² всей внутренней поверхности стаканчика, и при тех же условиях опыта (описано выше), исключая срок действия инсектицида. Действие яда продолжалось в течение 24 ч, после чего мухи пересаживались в свежие пробирки и еще через сутки регистрировался результат опыта. Указанная длительность воздействия ДДТ была выбрана нами согласно данным работы Оленова (1958). По Оленову, резистентные к ДДТ линии дрозофилы при 24-часовом воздействии яда показывают хорошую выживаемость.

В наших исследованиях мухи, прошедшие отбор «по поведению», показали большую выживаемость на ДДТ при 24-часовой экспозиции, чем контрольные (табл. 3).

Выживаемость селективируемых и контрольных мух дана всюду по самкам, так как самцы значительно чувствительнее самок к инсектицидам и дают менее однородные результаты.

Данные аналогичного порядка получены и при 5-часовой экспозиции, с той лишь разницей, что процент выживаемости был выше и в опыте и в контроле. Разница в выживаемости этих сублиний была получена и при использовании значительно более токсичного, чем ДДТ, яда — тиюфоса.

Методика определения выживаемости была следующей: 15 самок и 15 самцов, предварительно выдержанных в течение суток на свежей дрожжевой среде, помещались в стаканчик с агар-сахарной средой, куда вносились полоска фильтровальной бумаги, обработанная тиофосом (из расчета 0,08 г на 1 см² внутренней поверхности стаканчика).

Таблица 3

Выживаемость селектируемых и контрольных самок дрозофилы на ДДТ (доза 512 г/см²) при 24-часовой экспозиции

Дата опыта	Количество испытанных		Выживаемость (в %)	
	опыт	контроль	опыт	контроль
20.XI.59	1	300	49±2,9	12±1,9
1.XII.59	1	300	64±2,8	7±1,5
2.XI.59	2,5	300	49±2,9	19±2,3

Посадки самок селектируемой линии у контрольных мух наступали заметно раньше, чем у селектируемых. При действии тиофоса они наступали у селектируемых самок в 17-20 раз раньше, чем у контрольных даже через 50 мин экспозиции на обработанной поверхности. В момент, когда у контрольных мух еще не наступало вступления в состояние отравления (через 50 мин после экспозиции на поверхности тиофоса прекращалось), и мухи (подопытные и контрольные) покидали поверхность, селектируемые самок агар-сахарную среду. Через сутки после экспозиции на поверхности тиофоса, которая у селектируемых мух оказалась в 17-20 раз раньше, чем у контрольных (5-4).

Таблица 4

Выживаемость селектируемых и контрольных самок дрозофилы на тиофосе (доза — 0,08 г/см², экспозиция — 50 мин)

Дата опыта	Доза	Число самок	Выживаемость (в %)	
			опыт	контроль
13.XI.59	1	120	51±2,5	3±1,4
1.XII.59	1	120	97±1,4	11±2,5
12.IV.60	2,0	225	85±2,2	4±1,3

ВЫВОДЫ

- 1) *Drosophila melanogaster* проявляет оборонительную реакцию (частичный уход на обработанные большими дозами ДДТ поверхности).
- 2) Селекция мух по оборонительной реакции на обработанные ДДТ поверхности привела к получению форм с резко сниженными посадками на поверхности, обработанные рядом органических инсектицидов.
- 3) Отселектированная линия показала повышенную выживаемость по сравнению с контролем на ДДТ при 24-часовой и 5-часовой экспозиции, а также на высоко токсичном для насекомых инсектициде — тиофосе при экспозиции в 50 мин.

ON THE SIGNIFICANCE OF THE PROTECTIVE RESPONSE OF DROSOPHILA FOR
THE RESISTANCE TO INSECTICIDES

L. S. Bachurikhina and E. M. Luchnikova

The fact that some individuals of *Drosophila melanogaster* had been observed to avoid the surfaces treated with high dosages of DDT was made use of for the selection. As a result forms were obtained with a distinctly reduced frequency of landing on surfaces treated with a number of organic insecticides. Being tested by the method used in these experiments, these forms showed a higher percentage of survival as compared to the unselected controls on the substrata poisoned with DDT and tiophos, a highly toxic insecticide.

ЛИТЕРАТУРА

- Дербенева-Дхова В. П. 1959. Успехи паразитологии, 60: 5, 28, 6, 737-744.
Овчинн Ю. М. 1958. Паразитология, 37, 3, 529-537.
Jellinger H. W. 1956. Wiener klin. Wochenschr., 68, 17, 114-118.
Hess A. D. 1952. Amer. j. trop. med., 1, 3, 231-238.
King W. and Graham 1948. J. gen. entom., 32, 1, 1-15.
Metcalf R. F. 1955. Physiol. rev., 35, 1, 99-112.
Saxe J. 1958. End. plasmol., 13, 9, 14-118.